Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 1, Spring 2024, p. 67-82

Effect of Plant Growth Promoting Bacteria on Growth and Biochemical Indices of Lettuce under Powdery Mildew Biotic Stress

P. Molaei[1]*, F. Nekounam[2]

1 and 2- M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, Respectively.
(*- Corresponding Author Email: pmolaei@znu.ac.ir)

Received: 03-10-2022 Revised: 17-11-2022 Accepted: 14-12-2022 Available Online: 14-12-2022	**How to cite this article:** Molaei, P., & Nekounam, F. (2024). Effect of plant growth promoting bacteria on growth and biochemical indices of lettuce under powdery mildew biotic stress. *Journal of Horticultural Science, 38*(1), 67-82. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.79038.1198

Introduction

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) from the Asteraceae family is one of the most important vegetables due to its rapid growth and commercial value. Currently, the market share of organic vegetables is constantly increasing due to customer demand for safer and healthier food. Excessive use of pesticides and chemical fertilizers threatens the environment and leads to the production of unsafe food products. Therefore, it is important to find alternatives instead of using pesticides chemical methods to manage powdery mildew. Generally, biotic and abiotic stresses are among the factors that have a destructive effect on growth and development, performance, and production of plant biomass. Fungicides can be the most effective method of controlling the powdery mildew disease, but this pathogen can develop resistance to fungicides. Rhizosphere bacteria are among the living agents that, by producing some allelochemicals, cause the dissolution of soil nutrients, increase the availability of nutrients, and induce plant resistance to biotic and abiotic stresses. In addition, they enhance host plant growth through an indirect mechanism, including the inhibition of disease-causing pathogens by releasing some allelochemical substances. The biological control of powdery mildew disease with the use of rhizospheric bacteria in lettuce and zucchini has been reported.

Material and Methods

To evaluate the biological control of powdery mildew fungus with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and effects on yield and quality of New Red Fire greenhouse lettuce, an experiment was carried out in a completely randomized design with three replications in the Research greenhouse of University of Zanjan during 2020. Experiment treatments consisted of five levels of PGPR (*Pseudomonas vancouverensis*- VPM, *Pseudomonas Koreensis*- KPM, *Pantoea agglomerans*- PAPM, *Pseudomonas putida*- PPM, and one level of combined bacteria (*Pantoea agglomerans*+ *Pseudomonas Koreensis*+ *Pseudomonas putida*+ *Pseudomonas vancouverensis*- MBPM, one level of chemical fertilizer 100% N, P and, K according to soil test results- NPK, and two control treatment without powdery mildew condition (C) and under powdery mildew conditions (CPM).

The "New Red Fire" lettuce seeds were surface sterilized with 0.5% (v/v) sodium hypochlorite for 10 min and germinated at 20ºC. After germination, seedlings with similar size were transplanted into pots. Plants were grown under greenhouse condition with 60/70 % (day/night) relative humidity, 15/18 °C (day/night) temperature. Inoculation of pathogenic fungi was done 40 days after seed germination. Plants were harvested after 75 days. The chlorosis and necrosis spots number on each plant, plant fresh weight, plant dry weight, leaf number, total chlorophyll, total phenol and flavonoids contents, antioxidant activity, anthocyanin content, and catalase and peroxidase enzyme activity were measured.

https://doi.org/10.22067/jhs.2022.79038.1198

Results

The results showed that the application of potassium and phosphorus solubilizing bacteria and NPK fertilizer significantly increased plant growth compared to control plants under the stress of powdery mildew fungus. The highest plant fresh weight, percentage of plant dry weight, and leaf number were obtained with the application of combined potassium and phosphorus solubilizing bacteria treatment and 100% N fertilizer under the biostress. The maximum total chlorophyll was obtained with the application of *Pseudomonas koreensis* and *Pantoea agglomerans* bacteria. 100% reduction of necrosis spots was obtained by using the *Pantoea agglomerans* bacteria. The maximum of chlorosis spots (increase of 55.8%) and necrosis spots (an increase of 88.8%), total phenol (an increase of 52%), total flavonoids (an increase of 39.3%), catalase (an increase of 28.4%) and peroxidase enzymes activity (49.1%) were obtained with application of NPK fertilizer. No significant effect on antioxidant activity was observed with the application of chemical fertilizer and rhizosphere bacteria under the Biostress. The maximum anthocyanin contents were obtained with the application of *Pseudomonas koreensis*.

Conclusion

According to the results, the application of NPK chemical fertilizer and seed pretreatment of lettuce with PGPR increased the value of antioxidant compounds including total phenol, flavonoid, and anthocyanin contents and catalase and peroxidase enzymes activity under powdery mildew conditions. Inoculation of lettuce seeds with PGPR, in addition to improve plant growth under biological stress conditions, increased anthocyanin contents and induced the resistance of lettuce plants to powdery mildew. Seed pretreatment with PGPR reduced chlorosis and necrosis spots in leaves. Therefore, pretreatment of lettuce seeds with PGPR instead of chemical compounds (fertilizers, pesticides and plant growth regulators) is recommended to improve the yield and quality of lettuce under powdery mildew conditions.

Keywords: Anthocyanin, Biological control, Biostress, Necrotic spots, Powdery mildew

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۱، بهار ۱٤۰۳، ص. ۸۲-٦۷

تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی کاهو تحت تنش زیستی سفیدک پودری

پرستو مولائی[1*] - فاطمه نکونام[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳

چکیده

به‌منظور ارزیابی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی کاهو در شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری، آزمایشی به‌صورت طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان، در سال ۱۳۹۹ اجرا شد. گیاهان در شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری با پنج سطح از باکتری‌های محرک رشد شامل *سودوموناس‌کورینسیس*، *سودوموناس‌ونکورنسیس*، *سودوموناس‌پوتیدا*، *پانتوآگلومرانس* و ترکیب چهار گونه باکتری محرک رشد (*سودوموناس‌کورینسیس* + *سودوموناس‌ونکورنسیس* + *سودوموناس‌پوتیدا* + *پانتوآگلومرانس*) و یک سطح کود شیمیایی NPK تیمار شدند. دو تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری ریزوسفری و بدون افزودن کود شیمیایی) در شرایط بدون تنش و تحت تنش زیستی بود. نتایج نشان داد، حداکثر وزن تازه، درصد ماده خشک بوته و تعداد برگ در کاربرد تیمار باکتری ترکیبی حاصل شد، به‌طوری‌که نسبت به گیاهان شاهد با تنش، ۵۹/۵ درصد وزن تازه بوته، ۳۴/۸ درصد ماده خشک بوته و ۴۲/۲ درصد تعداد برگ افزایش یافت. بیشترین محتوای کلروفیل کل (افزایش ۳۸/۵ درصد) با کاربرد باکتری *سودوموناس کورینسیس* و *پانتوآگلومرانس* نسبت به گیاهان شاهد تحت تنش بدست آمد. همچنین با کاربرد باکتری *پانتوآگلومرانس* کاهش ۱۰۰ درصدی لکه‌های نکروزه و ۲۵/۲ درصدی لکه‌های کلروزه مشاهده شد. افزایش لکه‌های کلروزه (۵۵/۸ درصد)، لکه‌های نکروزه (۸۸/۸ درصد)، فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۸/۴ درصد)، آنزیم پراکسیداز (۴۹/۱ درصد)، محتوای فنول کل (۵۲ درصد) و فلاونوئید کل (۳۹/۳ درصد) نسبت به گیاهان شاهد تحت تنش، در کاربرد تیمار کود شیمیایی NPK حاصل شد. کاربرد باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی NPK اثر معنی‌داری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کاهو تحت تنش زیستی نداشت. حداکثر محتوای آنتوسیانین (افزایش ۵۵/۶ درصد) با کاربرد باکتری *کورینسیس* نسبت به گیاهان شاهد تحت تنش بدست آمد. به‌طور کلی تلقیح بذر کاهو با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش معنی‌دار رنگیزه آنتوسیانین در برگ، محتوای کلروفیل کل، ترکیبات فنولی، مقاومت گیاه میزبان به تنش زیستی سفیدک پودری و متعاقباً بهبود شاخص‌های رشدی و عملکرد (وزن تازه بوته قابل برداشت) گردید. با توجه به نتایج این پژوهش، پیش تیمار بذر کاهو با باکتری‌های محرک رشد برای بهبود عملکرد و کیفیت کاهو در شرایط قارچ سفیدک پودری توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، تنش زیستی، سفیدک پودری، کنترل زیستی، لکه‌های نکروزه

مقدمه

کاهو با نام علمی (*Lactuca sativa* L.) مهمترین سبزی سالادی مورد استفاده در جهان، با ارزش غذایی بسیار بالا اعم از اسیدفنولیک، اسیدآسکوربیک، فیبر فراوان، منبع غنی از ویتامین‌های A، B، C، E و K، آهن، کلسیم، سدیم، پتاسیم، مس، فسفر و منیزیم است (Mampholo *et al.*, 2016). تنش‌های زنده و غیرزنده از جمله عواملی هستند که بر رشد و نمو، عملکرد و تولید زیست‌توده گیاهی تأثیر مخرب می‌گذارند (Chen *et al.*, 2012). ویروس‌ها، باکتری‌ها، نماتدها، علف‌های هرز و عنکبوتیان، همگی از منابع تنش زیستی در گیاهان هستند، که موجب کاهش بنیه گیاه و در نهایت موجب از بین رفتن گیاه میزبان می‌گردند (Singla & Krattinger, 2016). بیماری

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: pmolaei@znu.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2022.79038.1198

سفیدک پودری، یکی از بیماری‌های مهم سبزی‌ها در مناطق مرطوب و گلخانه‌ها محسوب می‌شود که با تشکیل کلونی‌های سفید روی سطح برگ‌ها، دمبرگ و ساقه موجب کاهش سطح فتوسنتز و رشد گیاه شده و با از بین رفتن زودرس شاخه و برگ موجب کاهش قابل توجه عملکرد می‌گردد (Liu *et al*., 2010). این پاتوژن تعداد زیادی اسپور تولید و به راحتی توسط باد پراکنده و به‌طور گسترده در مزرعه گسترش می‌یابد. قارچ سفیدک پودری در شرایط مساعد به سرعت رشد می‌کند، زیرا فاصله زمانی بین آلودگی گیاه و ظهور علائم بیماری معمولاً ۳ تا ۷ روز است و در این بازه کوتاه می‌تواند تعداد زیادی کنیدیوم تولید کند. از شرایط مساعد می‌توان به رشد متراکم گیاه، شدت نور کم و رطوبت نسبی بالا برای بقای کنیدیوم‌ها اشاره نمود. در کاهو، علائم بیماری قارچی معمولاً ابتدا روی برگ‌های طوقه‌ای و سطح زیرین برگ‌ها ایجاد می‌شود و در برگ‌های آلوده، پژمردگی و پیری زودرس مشاهده می‌گردد (McGrath, 2017). نیتروژن یک عامل مهم تغذیه‌ای برای رشد محصول و افزایش عملکرد می‌باشد و به‌طور مستقیم بر شدت بیماری سفیدک پودری اثرگذار می‌باشد (Zhu *et al*., 2017). قارچ سفیدک پودری با استفاده از قارچ‌کش‌ها، ارقام مقاوم، عوامل بیولوژیکی و ترکیبات شیمیایی کنترل می‌گردد. قارچ‌کش‌ها می‌توانند مؤثرترین روش کنترل این بیماری باشند اما پاتوژن قارچ سفیدک پودری می‌تواند نسبت به قارچ‌کش‌ها مقاومت ایجاد نماید. بنابراین دستیابی به روش‌های جایگزین برای مدیریت بیماری سفیدک پودری، امری مهم می‌باشد. امروزه کاربرد روغن‌های گیاهی، نمک‌های معدنی و عوامل بیولوژیک برای القای مقاومت به گیاه میزبان در برابر پاتوژن قارچ سفیدک پودری توسعه یافته است (Liu *et al*., 2010). یکی از انواع مقاومت‌های القائی در گیاهان، مقاومت سیستمیک اکتسابی (Systemic acquired resistance) می‌باشد که توسط برخی عوامل زنده و غیرزنده ایجاد می‌شوند و از طریق آن فعالیت ژن‌های پاسخ‌دهنده به بیماری‌گر، تحریک و موجب القاء مقاومت نسبت به عوامل بیماری‌زا در گیاه می‌گردد (Vlot *et al*., 2009). باکتری‌های ریزوسفری از جمله عوامل زنده‌ای هستند که با تولید برخی مواد آللوشیمیایی، موجب انحلال عناصر غذایی خاک، افزایش دسترسی به مواد مغذی و القای مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌گردند. علاوه بر این از طریق مکانیسم غیرمستقیم، شامل مهار پاتوژن‌های بیماری‌زا با ترشح برخی مواد آللوشیمیایی موجب ارتقای رشد گیاه میزبان می‌شوند. نمونه‌هایی از این مواد آللوشیمیایی؛ سیدروفورها، آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌های لیتیک مانند کیتیناز و مواد فرار مانند هیدروژن سیانید می‌باشند (Saraf *et al*., 2014). این میکروارگانیسم‌های سودمند در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، ریزوسفر گیاهان را احاطه کرده و با تولید اگزوپلی‌ساکاریدها، هورمون‌ها، ترکیبات فرار، آنتی‌اکسیدان‌ها، آنزیم‌ها، سیدروفور، آنتی‌بیوتیک‌ها و یا ترکیبات قارچ‌کشی، تنظیم مثبت یا منفی ژن‌های مربوطه و اصلاح مورفولوژی ریشه گیاه میزبان، تحمل ایجاد می‌نمایند (Vurukonda *et al*., 2015). باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس، دو جنس مهم در میان همه سویه‌های باکتری‌های ریزوسفری، چندین نوع آنتی‌بیوتیک را سنتز کرده و به رشد گیاه و سرکوب بیماری از طریق آنتی‌بیوز، مدیریت بیماری می‌نمایند (Jayaprakashvel & Mathivanan, 2011). باکتری‌های همزیست، موجب تجمع متابولیت‌های ثانویه و تحریک چندین ترکیب شیمیایی دیگر در گیاهان میزبان می‌گردند (Zhang *et al*., 2010). تجمع پرولین، مالون‌دی‌آلدئید، آلدئیدها، پراکسید هیدروژن، قندهای محلول و نشاسته توسط محققین متعددی گزارش شده است (Fernandez *et al*., 2012). این تغییرات و تجمعات توسط باکتری‌های ریزوسفری به رشد گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی کمک به‌سزایی می‌کند. در تحقیقات پیشین محققین دریافتند کاربرد ترکیبی باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر به همراه کود نیتروژن موجب افزایش عملکرد و کیفیت در گیاه کاهو می‌گردد (Molaei *et al*., 2023). گزارش شده است، کاربرد باکتری‌های ریزوسفری موجب افزایش چند برابری سطح آنتی‌اکسیدان و بهبود سطح آنتی‌اکسیدان به تحمل تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان کمک می‌نماید (Babu *et al*., 2015).

به‌دلیل توسعه نژادهای قارچ سفیدک پودری، تولیدکنندگان برای کنترل این پاتوژن قارچی به‌طور معمول، مجبور به استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی به‌ویژه در شرایط گلخانه‌ای هستند. استفاده بی‌قاعده از قارچ‌کش‌های شیمیایی، موجب سمیت ارگانیسم‌های غیر هدف شده و سلامتی انسان و محیط‌زیست را به خطر انداخته است. علاوه بر این استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی جهت افزایش تولید محصول باعث تخریب محیط‌زیست شده است. لذا این پژوهش با هدف ارزیابی اثر تعدادی از گونه‌های باکتری محرک رشد بر شاخص‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و القای مقاومت گیاه کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire در شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

شرایط رشد و مواد گیاهی

به‌منظور ارزیابی اثر باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و افزایش مقاومت در گیاه کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire تحت تنش قارچ سفیدک پودری، آزمایشی بصورت طرح کاملا تصادفی در سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در پاییز سال ۱۳۹۹ صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل ۵ سطح از ترکیب

باکتری‌های محرک رشد با کود شیمیایی، یک سطح کود شیمیایی NPK به میزان ۱۰۰ درصد نیاز گیاه با توجه به آزمون خاک و دو تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری ریزوسفری و بدون افزودن کود شیمیایی) در شرایط بدون تنش و تحت تنش زیستی بودند (جدول ۱). کلیه تیمارهای آزمایش تحت شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری اجرا شدند. باکتری‌های محرک رشد مورد آزمایش از شرکت زیست فناور سبز در شهر تهران تهیه گردید.

جدول ۱- تیمارهای باکتری‌های محرک رشد مورد استفاده در آزمایش

Table 1- The plant growth promoting bacteria treatments used in the experiment

C	شاهد (بدون تلقیح باکتری و بدون افزودن کود شیمیایی) بدون شرایط تنش زیستی Control (Without bacterial inoculation and chemical fertilizers) without biostress
CPM	شاهد (بدون تلقیح باکتری و بدون افزودن کود شیمیایی) در شرایط تنش زیستی Control (Without bacterial inoculation and chemical fertilizers) with biostress
NPM	ترکیب کود شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم به میزان ۱۰۰ درصد نیاز گیاه در شرایط تنش زیستی Composition of N, P and K chemical fertilizers (Amount of 100% of the plant's needs)
VPM	*سودوموناس ونکورنسیس* (انحلال‌کننده پتاسیم) + کود نیتروژن و فسفر به میزان ۱۰۰ درصد نیاز گیاه در شرایط تنش زیستی *Pseudomonas vancouverensis (*Potassium solubilizing bacteria) + N and P chemical fertilizers (Amount of 100% of the plant's needs) with biostress
KPM	*سودوموناس کورینسیس* (انحلال‌کننده پتاسیم) + کود نیتروژن و فسفر به میزان ۱۰۰ درصد نیاز گیاه در شرایط تنش زیستی *Pseudomonas koreensis* (Potassium solubilizing bacteria) + N and P chemical fertilizers (Amount of 100% of the plant's needs) with biostress
PPM	*سودوموناس پوتیدا* (انحلال‌کننده فسفر) + کود نیتروژن و پتاسیم به میزان ۱۰۰ درصد نیاز گیاه در شرایط تنش زیستی *Pseudomonas putida* (Phosphorus solubilizing bacteria) + N and K chemical fertilizers (Amount of 100% of the plant's needs) with biostress
PAPM	*پانتوآگلومرانس* (انحلال‌کننده فسفر) + کود نیتروژن و پتاسیم به میزان ۱۰۰ درصد نیاز گیاه در شرایط تنش زیستی *Pantoea agglomerans* (Phosphorus solubilizing bacteria) + N and K chemical fertilizers (Amount of 100% of the plant's needs) with biostress
MBPM	ترکیب باکتری (انحلال‌کننده فسفر و پتاسیم) *سودوموناس ونکورنسیس، کورینسیس، پوتیدا* و *پانتوآگلومرانس* + کود نیتروژن به میزان ۱۰۰ درصد نیاز گیاه در شرایط تنش زیستی Composition of bacteria (Potassium and phosphorus solubilizing bacteria) *Ps. vancouverensis, Ps. koreensis, Ps. putida* and *Pantoea agglomerans* + N chemical fertilizers (Amount of 100% of the plant's needs) with biostress

تلقیح باکتری‌ها به‌صورت بذرمال قبل از کشت انجام شد، برای این منظور ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به‌مدت یک دقیقه سترون سطحی شد، سپس به‌منظور حذف هیپوکلریت سدیم، بذرها با آب مقطر استریل ۱۰ بار شستشو شدند. سپس بذرهای سترون شده به ارلن مایرهای حاوی سوسپانسیون باکتری، با جمعیت CFU[1] ۱۰^۷ تا ۱۰^۸ افزوده و به‌مدت ۴۵ دقیقه بر روی شیکر با دور rpm ۱۲۰ و دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از طی زمان مذکور، بذور در شرایط استریل فراهم شده با استفاده از دستگاه هود لامینار از داخل ارلن مایرها خارج و به‌منظور حذف رطوبت اضافی بر روی آلومینیوم فویل استریل پخش شد. بذور به‌صورت مستقیم در گلدان‌های ۴ لیتری حاوی بستر کشت ۶۰ درصد خاک لومی و ۴۰ درصد ماسه کشت شدند و در هر متر مربع ۱۶ گلدان قرار گرفت. در هر گلدان ابتدا ۴ بذر کشت، پس از سبز شدن بذور در مرحله دو برگ اصلی، قوی‌ترین گیاهچه نگه‌داری و سایر بوته‌ها از بستر حذف گردید، در آخر در هر گلدان یک بوته نگه‌داری شد. شرایط دمایی گلخانه در روز ۲±۱۸ درجه سانتی‌گراد و شب ۲±۱۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد در روز و ۶۰ درصد در شب بود. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

1- Colony forming unit /gr

جدول ۲- برخی از خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک مورد آزمایش
Table 2- Some chemical and physical properties of the soil

بافت خاک Soil Texture	فسفر P (mg.kg^{-1})	پتاسیم K (mg.kg^{-1})	آهن Fe (mg.kg^{-1})	روی Zn (mg.kg^{-1})	نیتروژن N (%)	هدایت الکتریکی EC (dS.m^{-1})	pH
لوم شنی Sandy Loam	11	120	1.74	0.64	0.07	0.85	7.85

مایه‌زنی قارچ و ایجاد بیماری روی گیاه

۴۰ روز پس از کاشت، کنیدی‌های قارچ سفیدک سطحی از برگ‌های کاهو در گلخانه‌ای که به تازگی به بیماری سفیدک پودری آلوده شده بودند، جمع‌آوری شد. تلقیح به روش جمالی زواره و همکاران (Jamali Zavareh *et al*., 2004) با کاربرد سوسپانسیون اسپورهای جوان قارچ بیمارگر در آب مقطر (دارای ۱۰^{۴}× ۴ اسپور در میلی‌لیتر) صورت گرفت. بوته‌های تلقیح شده با سوسپانسیون به‌مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی در زیر پوشش پلی‌اتیلنی غیرشفاف در شرایط رطوبت بالای ۹۰ درصد نگهداری شدند و پس از آن بوته‌ها به شرایط عادی گلخانه انتقال یافتند. ۲۵ روز پس از مایه‌زنی تعداد لکه‌های کلروزه و نکروزه روی هر بوته شمارش و براساس آن، شدت آلودگی (درصد لکه کلروزه و نکروزه) نسبت به شاهد با تنش محاسبه گردید (Sirous & Jamali Zavareh, 2014).

صفات مورد ارزیابی

۷۰ روز پس از کشت، بوته‌ها برداشت و برای تعیین وزن تازه با ترازوی دقت یک صدم اندازه‌گیری و به واحد گرم گزارش گردید. تعداد برگ، در زمان برداشت شمارش شد. برای تعیین درصد ماده خشک ابتدا وزن تازه بوته‌ها با ترازوی دقت یک صدم اندازه‌گیری شد و پس از خشک شدن به‌مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد، وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری و با استفاده از معادله زیر درصد ماده خشک محاسبه گردید:

درصد رطوبت بوته = [(وزن تازه بوته – وزن خشک بوته)/ وزن تازه بوته] × ۱۰۰

درصد ماده خشک = (۱۰۰ – درصد رطوبت بوته)

سنجش محتوای کلروفیل کل طبق روش (Arnon, 1967) و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

A میزان جذب در طول موج‌های مورد نظر، V حجم نهایی بر حسب میلی‌لیتر و W وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشد.

$$\text{Total Chlorophyll (mg g}^{-1}\text{ FW}^{1}) = [(20.2 \times A_{645} + 8.02\, A_{663})] \times V/ (W\times1000)$$

سنجش محتوای فنول کل برگ طبق روش فولین_سیوکالتو (Singleton & Rossi, 1965)، محتوای فلاونوئید کل با استفاده از رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید به روش (Chang *et al*., 2002)، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال‌های آزاد) از طریق اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی با (DPPH- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) به روش (Miliauskas *et al*., 2004)، میزان آنتوسیانین برگ به روش (Wagner, 1979) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. همچنین سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز و فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش (Kara & Mishra, 1976) انجام گرفت.

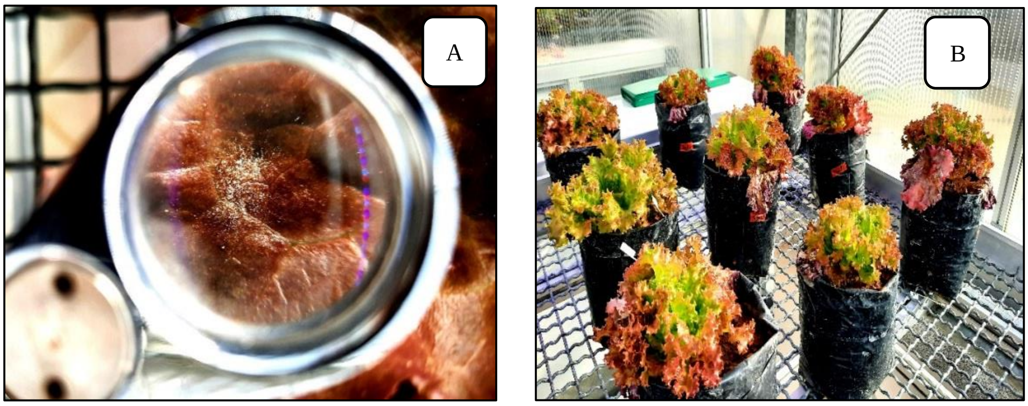
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

میزان آلودگی به بیماری

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش زیستی بر میزان آلودگی به بیماری (درصد لکه‌های کلروزه و نکروزه) در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). با توجه به نتایج، با کاربرد کود شیمیایی NPK میزان آلودگی در گیاه کاهو به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. همچنین پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد به‌طور معنی‌داری، میزان آلودگی را نسبت به گیاهان شاهد کاهش دادند (شکل ۲). به‌طور کلی هنگام برداشت، بیشترین ظهور آلودگی در برگ‌های اولیه و تحتانی مشاهده گردید (شکل ۱). بیشترین درصد لکه‌های کلروزه و نکروزه با اعمال کود شیمیایی NPK با ۵۵/۸ درصد افزایش لکه کلروزه و ۸۸/۸ درصد افزایش لکه نکروزه نسبت به تیمار شاهد با تنش حاصل شد. به‌طور میانگین کاربرد پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های *سودوموناس ونکورنسیس*، *سودوموناس کورینسیس* و *پانتوآگلومرانس* موجب کاهش ۲۵/۲ درصدی ظهور لکه‌های کلروزه گردید. کمترین درصد لکه‌های کلروزه در تیمار باکتری *سودوموناس ونکورنسیس* مشاهده شد. با تلقیح باکتری *پانتوآگلومرانس* در گیاه کاهو تحت تنش قارچ سفیدک پودری کاهش ۱۰۰ درصدی بروز لکه‌های نکروزه بدست آمد (شکل ۲).

1- Fresh weight



شکل ۱- اولین علائم سفیدک پودری پس از یک هفته از مایه‌زنی قارچ (A؛ لوپ، زوم ۳۰x) و مرحله برداشت، از بین رفتن برگ‌های اولیه و تحتانی (B) گیاه کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire

Figure 1- The first symptoms of powdery mildew after a week of inoculating with fungus (A; loupe, zoom 30X) and Harvest stage, primary and lower leaves extinction (B) of greenhouse lettuce cv. New Red Fire

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان آلودگی برگ‌های گیاه کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire

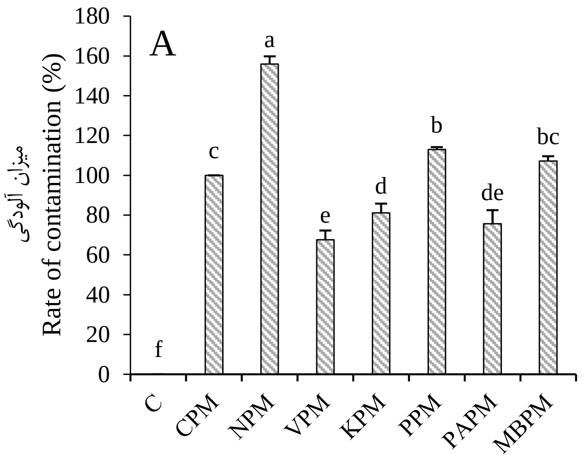
Table 3- ANOVA for the effect of NPK chemical fertilizer and seed pretreatment with plant growth promoting bacteria on leaf contamination rate of greenhouse lettuce cv. New Red Fire

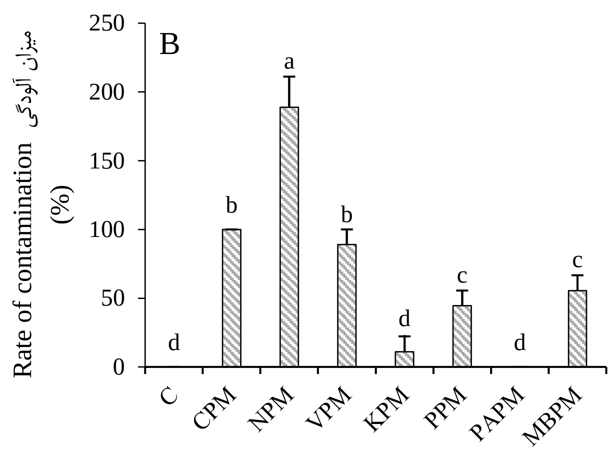
منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares	
		درصد لکه‌های کلروز Percentage of chlorosis spots	درصد لکه‌های نکروز Percentage of necrosis spots
تیمار Treatment	7	6043.10**	12380.95**
خطا Error	16	41.87	370.37
ضریب تغییرات C.V (%)		10.07	21.19

**: معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

**: Significant at $p\leq 0.01$

مطالعات قبلی نشان دادند، افزایش محتوای نیتروژن برگ به‌عنوان بستری برای رشد پاتوژن قارچ‌های بیماری‌زا عمل می‌نمایند. علاوه بر این، افزایش غلظت نیتروژن موجود در برگ‌ها، مواد مغذی را برای رشد و تولیدمثل پاتوژن قارچ‌های بیماری‌زا فراهم می‌کند (Zhu *et al.*, 2017). باکتری‌های ریزوسفری با ترشح اگزوپلی‌ساکاریدها و سیدروفورها، حرکت یون‌های سمی را مهار و به حفظ تعادل یونی کمک می‌کنند، حرکت آب را در گیاهان تقویت، رشد میکروب‌های بیماری‌زا را مهار و در برابر حمله پاتوژن‌ها ایجاد مقاومت می‌نمایند (Radhakrishna *et al.*, 2017). تولید برخی آلکالوئیدها مانند الیموکلاوین و فستوکلاوین توسط میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان مهارکننده بیماری‌های قارچی شناخته شده است. پاسخ به بیماری بلایت زودرس در گیاه گوجه‌فرنگی توسط برخی باکتری‌های ریزوسفری به‌دلیل سنتز سیدروفورها، هیدروژن سیانید، کیتیناز و گلوکاناز صورت گرفت (Narendra Babu *et al.*, 2015). همسو با نتایج بدست آمده از این تحقیق، دینش و همکاران (Dinesh *et al.*, 2015) دریافتند از میان باکتری‌های ریزوسفری سویه *Bacillus amyloliquefaciens* و *Serratia marcescens* باعث افزایش مقاومت ۴۸ درصدی در برابر بیماری پوسیدگی نرم زنجبیل شدند. کاربرد دو سویه UFLA285 و ALB629 از باکتری‌های ریزوسفری، موجب کنترل ۴۲ و ۷۶ درصدی بیماری پژمردگی لوبیا گردید (Martins *et al.*, 2013)، که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت می‌نماید.





شکل ۲- اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان آلودگی کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire تحت تنش زیستی قارچ سفیدک پودری

درصد لکه کلروزه نسبت به تیمار شاهد با تنش (A)، درصد لکه نکروزه نسبت به تیمار شاهد با تنش (B). PM: قارچ سفیدک پودری، C: شاهد، N: کود شیمیایی NPK، V: *سودوموناس ونکورنسیس*، K: *سودوموناس کورینسیس*، P: *سودوموناس پوتیدا*، PA: *پانتوآگلومرانس*، MB: باکتری ترکیبی.

Figure 2- The effect of NPK chemical fertilizer and seed pretreatment with plant growth promoting bacteria on greenhouse lettuce cv. New Red Fire contamination under powdery mildew fungus bioticstress

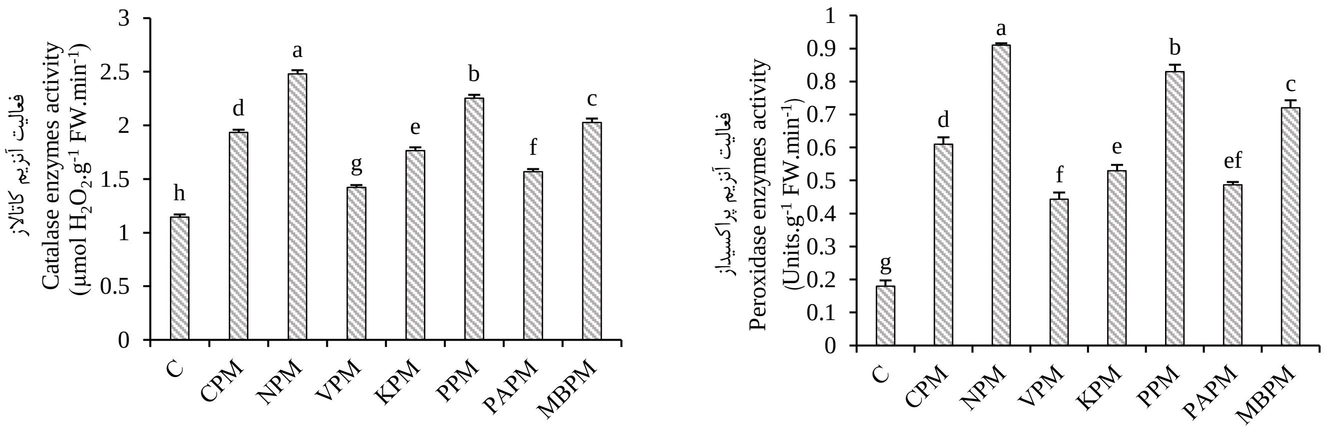
The percentage of chlorosis spots compared to the control treatment with stress (A) and the percentage of necrosis spots compared to the control treatment with stress (B). PM: Powdery mildew, C: control, N: NPK, V: *Ps. vancouverensis*, K: *Ps. koreensis*, P: *Ps. putida*, PA: *Pantoea agglomerans*, Mb: *Ps. putida* + *Pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p \leq 0.05$)

فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر کود شیمیایی NPK و پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش زیستی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز تحت تنش قارچ سفیدک پودری، با کاربرد کود شیمیایی NPK حاصل شد. اعمال کود شیمیایی NPK در شرایط تنش زیستی در گیاه کاهو موجب افزایش ۲۸/۴ درصد فعالیت آنزیم کاتالاز و ۴۹/۱ درصد فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد با تنش گردید (شکل ۳).

کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری در گیاه کاهو با کاربرد پیش‌تیمار بذر با باکتری *سودوموناس ونکورنسیس* حاصل شد (شکل ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، رابطه مستقیمی بین میزان تنش وارده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. پس از شناسایی عامل بیماری‌زا توسط گیاهان اولین پاسخ‌های دفاعی تولید ROS[1] می‌باشد، گیاهان به‌منظور جلوگیری از اثرات زیان‌بار و حفظ تعادل سطح گونه‌های اکسیژن فعال آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات‌پراکسیداز تولید می‌نمایند (Derikvand *et al*., 2020). تغییرات فعالیت آنزیم‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو در گیاه گوجه‌فرنگی در اثر آلودگی به *X. vesicatoria* (Itako *et al*., 2015)، در گیاه برنج در اثر آلودگی به بیماری باکتریایی *X. oryzae* pv. *Oryzae* (Chithrashree & Srinivas, 2012)، در گیاه لوبیا در اثر آلودگی به Xap (Farahani & Taghavi, 2016)، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه لوبیا در اثر باکتری بیمارگر Xap، علت را واکنش دفاعی گیاه در برابر تنش ناشی از بیمارگر و کاهش تولید پراکسیداسیون هیدروژن بیان داشتند (Derikvand *et al*., 2020)، که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت می‌نماید. تلقیح باکتری‌های ریزوسفری به تنهایی یا در کنسرسیوم‌ها تمایل به کاهش این آنزیم‌ها دارند که منجر به تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال کمتر شده و آسیب به غشای سلولی و پروتئین‌ها را بهبود می‌بخشند (Kumar *et al*., 2015).

1- Reactive oxygen species



شکل ۳- اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در برگ کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire تحت تنش زیستی

PM: قارچ سفیدک پودری، C: شاهد، N: کود شیمیایی NPK، V: *سودوموناس ونکورنسیس*، K: *سودوموناس کورینسیس*، P: *سودوموناس پوتیدا*، PA: *پانتوآگلومرانس*، MB: باکتری ترکیبی.

Figure 3- The effect of NPK chemical fertilizer and seed pretreatment with plant growth promoting bacteria on catalase and peroxidase enzymes activity the catalase and peroxidase activity of greenhouse lettuce cv. New Red Fire leaf under bioticstress

PM: Powdery mildew, C: control, N: NPK, V: *Ps. vancouverensis*, K: *Ps. koreensis*, P: *Ps. putida*, PA: *Pantoea agglomerans*, Mb: *Ps. putida* + *Pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p \leq 0.05$)

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها گمان می‌شود افزایش مقاومت به‌دست آمده توسط باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو از طریق افزایش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین به‌عنوان رنگیزه‌های محافظتی، موجب کاهش آسیب توسط بیمارگر سفیدک پودری و متعاقبا این امر موجب کاهش تنش در گیاهانی که با باکتری‌های محرک رشد تلقیح یافته بودند، گردیده است و ما شاهد رابطه مستقیمی بین میزان تنش وارده توسط بیمارگر و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو در گیاه کاهو در شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری بودیم.

صفات رشدی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش زیستی بر میزان وزن تازه بوته، درصد ماده خشک بوته و تعداد برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). با اعمال تنش زیستی قارچ سفیدک پودری وزن تازه بوته، درصد ماده خشک بوته و تعداد برگ در گیاهان شاهد با تنش، کاهش معنی‌داری یافت. با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها، تلقیح بذر کاهو با باکتری‌های محرک رشد و کاربرد کود شیمیایی NPK به‌طور معنی‌داری وزن تازه بوته و تعداد برگ را در مقایسه با گیاهان شاهد در شرایط تنش افزایش دادند (جدول ۵). حداکثر وزن تازه بوته (۶۷/۲۳ گرم) و درصد ماده خشک بوته (۹/۲۱ درصد) در کاربرد پیش تیمار بذر با باکتری ترکیبی مشاهده شد، که به ترتیب نسبت به تیمار شاهد تحت تنش و بدون تنش، ۵۹/۵ و ۳۰/۵ درصد وزن تازه بوته، ۳۴/۸ و ۱۸/۹ درصد، ماده خشک بوته افزایش یافت (جدول ۵).

حداکثر تعداد برگ ۲۱/۳۳ در کاربرد پیش تیمار بذر با باکتری ترکیبی حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد با تنش، ۴۲/۲ درصد افزایش تعداد برگ در بوته بدست آمد (جدول ۴). باکتری‌ها فراوان‌ترین موجودات در ریزوسفر هستند، ریزوباکترها قادر به تشکیل اسپورهای مقاوم به تنش با عمر طولانی و ترشح متابولیت‌هایی هستند که رشد گیاهان را تحریک و در شرایط تنش زیستی از گسترش پاتوژن بیماری‌زا جلوگیری می‌نمایند (Radhakrishan *et al*., 2017).

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire تحت تنش زیستی

Table 4- ANOVA for the effect of NPK chemical fertilizer and seed pretreatment with plant growth promoting bacteria on some morphological and physiological traits of greenhouse lettuce cv. New Red Fire under bioticstress

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares									
		کلروفیل کل Total chlorophyll	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	وزن تازه بوته Fresh shoot weight	ماده خشک Dry matter	تعداد برگ Leaf number	فنول کل Total phenol	فلاونوئید کل Total flavonoids	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	آنتوسیانین Anthocyanin
تیمار Treatment	7	0.02	0.58**	0.16**	146.10**	4.39**	10.37**	21316.15**	2979.34**	5.20ns	2.05**
خطا Error	16	0.001	0.003	0.001	3.59	1.10	1.58	221.16	16.50	6.92	0.52
ضریب تغییرات C.V (%)		2.61	4.74	7.78	2.62	4.09	2.41	3.90	4.03	0.60	4.76

ns، **: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

ns, **: Non-significant and Significant at $p \leq 0.01$, respectively

جدول ٥- اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire تحت تنش زیستی

Table 5-The effect of NPK chemical fertilizer and seed pretreatment with plant growth promoting bacteria on some morphological and physiological traits of the greenhouse lettuce cv. New Red Fire under biotic stress

تیمار Treatment	وزن تازه بوته Fresh shoot weight (g)	ماده خشک Dry matter (%)	تعداد برگ Leaf number	کلروفیل کل Total chlorophyll ($mg.100g^{-1}$ FW)
C	51.51±0.48bc	7.74±0.51a-d	16±0.57bc	0.63±0.01c
CPM	42.14±1.45d	6.83±0.79b-d	15±0.57c	0.55±0.01e
NPM	54.52±1.40b	7.92±0.19a-c	17.66±0.88b	0.70±0.005b
VPM	50.58±0.81c	8.16±0.73ab	16.66±0.33bc	0.59±0.006d
KPM	54.79±1.10b	5.81±0.61d	18±0b	0.76±0.005a
PPM	50.88±0.86c	5.99±0.73cd	17.33±0.88bc	0.58±0.012de
PAPM	54.78±1.26b	6.22±0.30bd	17.66±1.20b	0.77±0.003a
MBPM	67.23±1.02a	9.21±0.68a	21.33±0.66a	0.59±0.006d

PM: قارچ سفیدک پودری، C: شاهد، N: کود شیمیایی NPK، V: *سودوموناس ونکورنسیس*، K: *سودوموناس کورینسیس*، P: *سودوموناس پوتیدا*، PA: *پانتوآگلومرانس*، MB: باکتری ترکیبی. در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشند.

PM: Powdery mildew, C: control, N: NPK, V: *Ps. vancouverensis*, K: *Ps. koreensis*, P: *Ps. putida*, PA: *Pantoea agglomerans*, Mb: *Ps. putida* + *Pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. In each column, the averages with at least one common letter have no significant difference at the 5% of probability level using Duncan's multiple range test.

باکتری‌های ریزوسفری با تسهیل دسترسی به عناصر غذایی (حلالیت نیتروژن یا فسفر، جذب نیتروژن و سایر عناصر غذایی) به طور مستقیم و یا تولید و تعدیل‌سازی هورمون‌های گیاهی از جمله سیتوکنین‌ها، اسید جیبرلیک، ایندول‌استیک‌اسید یا با کاهش اثرات بازدارندگی پاتوژن‌های مختلف، به رشد و نمو گیاهان میزبان کمک می‌نمایند (Ahemad & Kibret, 2014). نیتروژن به‌طور مستقیم با سنتز کربوهیدرات‌ها و آمینواسیدها، نقش تعیین‌کننده‌ای در رشد و نمو گیاهان دارد (Taiz & Zeiger, 2010). ترشح فیتوهورمون‌ها مانند ایندول‌استیک‌اسید (IAA) توسط باکتری‌های موجود در محیط ریزوسفر نقش مهمی در تعامل بین گیاه میزبان و باکتری‌ها ایفا می‌کند (Spaepen & Vanderleyden, 2011). IAA آزاد شده از باکتری‌های ریزوسفری، دیواره سلول‌های گیاهی را سست و حجم بیشتری از ترشحات ریشه را به‌عنوان مواد غذایی برای باکتری‌های ناحیه ریزوسفر مهیا می‌سازد (Glick, 2012). با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، کاربرد پیش‌تیمار بذر کاهو با باکتری‌های ریزوسفری در شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری موجب القای مقاومت و

کاهش تنش در گیاهان میزبان و متعاقبا موجب افزایش عملکرد و صفات رویشی گردید. باکتری‌های ریزوسفری از طریق تولید ACC دآمیناز، تغییرات قابل مشاهده عمده‌ای مانند افزایش طول ریشه، بهبود رشد ساقه، گره‌زایی و همچنین بهبود جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در محصولات مختلف باعث می‌شوند (Glick, 2012). باکتری‌های محرک رشد مواد فعال فیزیولوژیکی مختلفی را تولید می‌کنند که جوانه‌زنی بذر، تسریع رشد میزبان و افزایش عملکرد محصول را تشویق می‌کند و دفاع گیاهان را در برابر عوامل بیماری‌زا بهبود می‌بخشند (Saharan & Nehra, 2011)، که نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌نمایند.

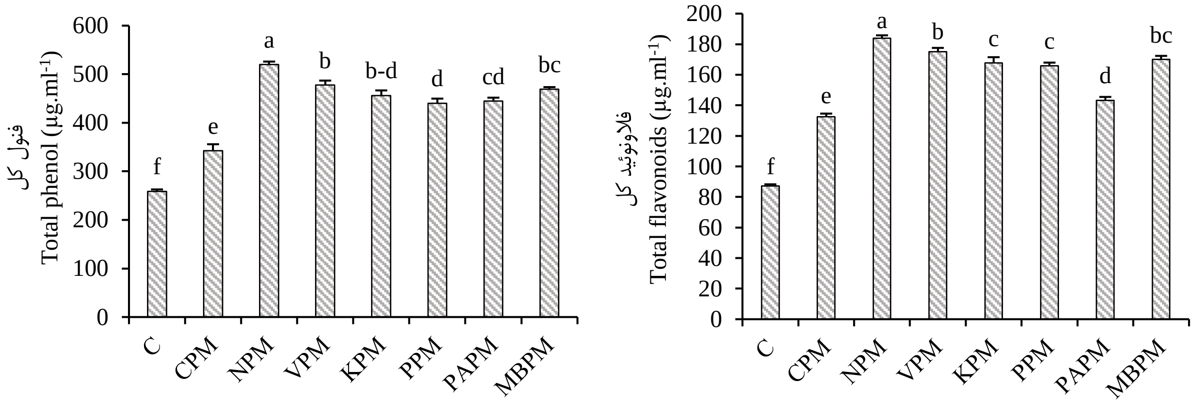
محتوای کلروفیل کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش زیستی بر میزان محتوای کلروفیل کل در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). محتوای کلروفیل کل در برگ گیاهان شاهد تحت تنش بیماری سفیدک پودری، کاهش معنی‌داری یافت. با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها، تلقیح بذر کاهو با باکتری‌های محرک رشد و کاربرد کود شیمیایی NPK به‌طور معنی‌داری موجب افزایش محتوای کلروفیل کل نسبت به گیاهان شاهد تحت تنش گردید (جدول ۵). حداکثر محتوای کلروفیل کل در شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری در پیش تیمار بذر کاهو با باکتری *سودوموناس کورینسیس* و باکتری *پانتوآگلومرانس* حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد تحت تنش به طور میانگین موجب افزایش ۳۸/۵ درصد محتوای کلروفیل کل شد. علاوه بر این، با توجه به نتایج (شکل ۲ و جدول ۵)، پیش تیمار بذر کاهو با باکتری *سودوموناس کورینسیس* و باکتری *پانتوآگلومرانس* کمترین درصد لکه نکروزه را نسبت به سایر تیمارها داشت. کمترین محتوای کلروفیل کل در گیاهان شاهد تحت تنش بدست آمد که از لحاظ آماری با گیاهان تیمار شده با باکتری *سودوموناس پوتیدا* تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۵).

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، آلودگی به قارچ سفیدک پودری در گیاهان شاهد تحت شرایط بیماری منجر به کلروز و کاهش رنگدانه‌های کلروفیل در برگ‌های کاهو گردید. کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل به‌دلیل پاتوژن بیماری‌زای سفیدک در تحقیقات پیشین گزارش شده است (Lindenthal *et al*., 2005). قارچ‌های بیوتروف که موجب ایجاد بیماری سفیدک در گیاهان می‌شوند، کلروفیل را به میزان قابل توجهی کاهش و منجر به آسیب شدید فرآیند فتوسنتز در محصولات مختلف می‌گردند، با این حال کاهش کلروفیل به تنهایی موجب کاهش فتوسنتز در برگ‌های آلوده نمی‌شود. تصور می‌شود که انتشار هیف‌های قارچ و نفوذ آن در سلول‌های میزبان موجب بی‌ثباتی در یکپارچگی ساختار می‌شود که موجب کاهش رنگدانه‌های کلروفیل می‌گردد (Lindenthal *et al*., 2005). افزایش غلظت کلروفیل با افزایش جذب نیتروژن رابطه مستقیمی دارد چراکه نیتروژن نقش مهمی در ساختمان کلروفیل ایفا می‌نماید (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007). میزان فراهمی عنصر آهن یکی از عوامل اثرگذار و مهم بر فرآیند فتوسنتز در گیاهان است (Bahrami *et al*., 2020). سیدروفورها از عوامل کلات‌کننده آهن، عامل انتقال آهن III توسط باکتری‌ها به گیاه میزبان می‌باشند. محققین انواع مختلفی از سیدروفورها را در جنس‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری شناسایی و ارتباط بین سنتز سیدروفورها با جذب آهن و تحریک رشد توسط باکتری‌های ریزوسفری در گونه‌های مختلف گیاهان را گزارش داده‌اند (Cézard *et al*., 2015). افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی در نشای کلم با کاربرد باکتری‌های ریزوسفری گزارش شده است (Turan *et al*., 2014)، که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

محتوای فنول و فلاونوئید کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش زیستی بر میزان محتوای فنول و فلاونوئید کل در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). کاربرد پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی در شرایط تنش زیستی موجب افزایش معنی‌دار محتوای فنول و فلاونوئید کل نسبت به تیمار شاهد با تنش و شاهد بدون تنش گردید. بیشترین میزان محتوای فنول کل (۵۲۰ μg. ml^{-1}) و فلاونوئید کل (۱۸۴ μg. ml^{-1}) در تیمار کود شیمیایی NPK تحت تنش سفیدک پودری و کمترین میزان محتوای فنول کل (۲۵۹ μg.ml^{-1}) و فلاونوئید کل (۲۸/۸۷ μg. ml^{-1}) در تیمار شاهد بدون تنش حاصل شد (شکل ۴).



شکل ٤- اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر محتوای فنول و فلاونوئید کل کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire تحت تنش زیستی

PM: قارچ سفیدک پودری، C: شاهد، N: کود شیمیایی NPK، V: *سودوموناس ونکورنسیس*، K: *سودوموناس کورینسیس*، P: *سودوموناس پوتیدا*، PA: *پانتوآگلومرانس*، MB: باکتری ترکیبی.

Figure 4- The effect of NPK chemical fertilizer and seed pretreatment with plant growth promoting bacteria on total phenol and flavonoid contents of greenhouse lettuce cv. New Red Fire under bioticstress

PM: Powdery mildew, C: control, N: NPK, V: *Ps. vancouverensis*, K: *Ps. koreensis*, P: *Ps. putida*, PA: *Pantoea agglomerans*, Mb: *Ps. putida* + *Pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p \leq 0.05$)

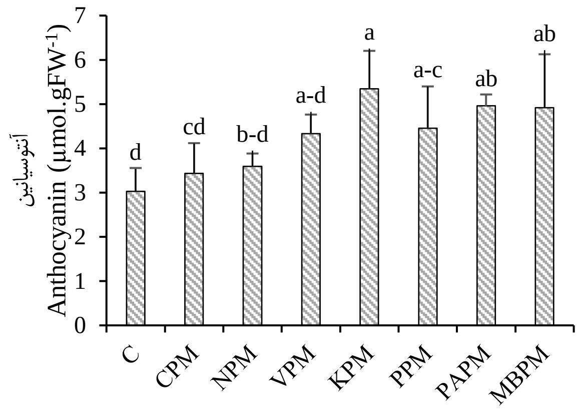
فلاونوئیدها توانایی از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن را دارند و از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌نمایند. تحقیقات نشان داد تیمار باکتری‌های *سودوموناس فلورسنس* و آزوسپیریلوم در گیاه *Tagetes minuta*، مقدار فنول کل را نسبت به تیمار شاهد دو برابر افزایش دادند (Cappellari *et al*., 2013). بیشترین میزان ترکیبات فنولی در گیاه همیشه بهار با کاربرد تیمار باکتری‌های ریزوسفری گزارش شد (Shariatifar *et al*., 2012). با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش (حداکثر میزان محتوای ترکیبات فنولی و حداکثر تعداد لکه‌های کلروزه و نکروزه در گیاهان تیمار شده با کود شیمیایی NPK)، می‌توان بیان داشت گیاهان تحت تیمار شیمیایی، تنش بیشتری را متحمل شده و این امر موجب افزایش سنتز ترکیبات فنولی اعم از محتوای فنول و فلاونوئید کل گردیده است. افزایش معنی‌دار ترکیبات ثانویه از جمله ترکیبات فنولی در اثر تنش سرما در گیاهان فلفل (Koc *et al*., 2010) گزارش شده است، که نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌نماید.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای آنتوسیانین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد، کاربرد کود شیمیایی NPK و پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش زیستی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار نگردید. تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال کود شیمیایی در شرایط تنش زیستی با تیمار شاهد با تنش و شاهد بدون تنش، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و در یک گروه آماری قرار گرفتند.

کاربرد کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش زیستی باعث افزایش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین نسبت به تیمار شاهد با تنش و شاهد بدون تنش شد (شکل ۵). بیشترین میزان آنتوسیانین (µ۳۴/۵mol.gFW-1) در تیمار باکتری *سودوموناس کورینسیس* و کمترین میزان آنتوسیانین (µ۰۳/۳mol.gFW-1) در تیمار شاهد بدون تنش مشاهده شد. کاربرد باکتری *سودوموناس کورینسیس* در شرایط تنش قارچ سفیدک پودری در گیاه کاهو موجب افزایش ۵۵/۶ درصد محتوای آنتوسیانین نسبت به تیمار شاهد با تنش گردید (شکل ۵). افزایش میزان آنتوسیانین در گیاه بگونیا تحت تنش به علت افزایش حفاظت نوری آنتوسیانین با از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن در تنش اکسیداتیو گزارش شد (Zhang *et al*., 2010).

آنتوسیانین‌ها از جمله ترکیبات ثانویه‌ای و رنگیزه‌های محافظتی در برابر تنش می‌باشند و همچنین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، موجب از بین بردن و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد در گیاهان می‌گردند و بدین طریق اکسیداسیون لیپیدها کاهش می‌دهند. علاوه بر این، آنتوسیانین‌ها توانایی حفاظت از ساختارهای حساس مانند غشاء را دارند و موجب جلوگیری از زوال کلروفیل در اندام‌های گیاهی می‌گردند (Basu *et al*., 2010).



شکل ۵- اثر کود شیمیایی NPK و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر محتوای آنتوسیانین کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire تحت تنش زیستی

PM: قارچ سفیدک پودری، C: شاهد، N: کود شیمیایی NPK، V: *سودوموناس ونکورنسیس*، K: *سودوموناس کورینسیس*، P: *سودوموناس پوتیدا*، PA: *پانتوآگلومرانس*، MB : باکتری ترکیبی.

Figure 5- The effect of NPK chemical fertilizer and seed pretreatment with plant growth promoting rhizobacteria on anthocyanin content of greenhouse lettuce cv. New Red Fire under bioticstress

PM: Powdery mildew, C: control, N: NPK, V: *Ps. vancouverensis*, K: *Ps. koreensis*, P: *Ps. putida*, PA: *Pantoea agglomerans*, Mb: *Ps. putida* + *Pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p≤0.05$)

بنابراین گیاهانی که دارای محتوای آنتوسیانین بیشتری هستند اغلب به تنش‌ها مقاوم‌تر می‌باشند. با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، کاربرد پیش تیمار بذر کاهو با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش زیستی قارچ سفیدک پودری موجب افزایش معنی‌دار سنتز آنتوسیانین در برگ‌ها گردید. طبق نتایج به‌دست آمده کاربرد پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو باعث کاهش معنی‌دار در درصد لکه‌های کلروزه و نکروزه شد. بنابراین می‌توان با توجه به نتایج این پژوهش بیان داشت که در گیاهان تحت تیمار باکتری‌های محرک رشد علاوه‌بر افزایش دسترسی به عناصر غذایی، تولید هورمون‌ها و هیدروژن سیانید، افزایش محتوای آنتوسیانین نیز موجب افزایش مقاومت غشاء برگ کاهو نسبت به کنیدی‌های قارچ سفیدک پودری گردید.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش، تلقیح بذر کاهو باکتری‌های محرک رشد علاوه بر هم‌افزایی رشد گیاه در شرایط تنش زیستی، افزایش مقاومت گیاه کاهو نسبت به بیماری سفیدک پودری حاصل گردید. تلقیح بذر کاهو با تیمار باکتری ترکیبی (MBPM) به همراه کود نیتروژن در شرایط تنش زیستی موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های عملکرد از جمله افزایش ۵۹/۵ درصد وزن تازه بوته نسبت به گیاهان شاهد و افزایش ۲۳/۳ درصد وزن تازه بوته در مقایسه با کاربرد کود شیمیایی NPK، در شرایط تنش شد. با اعمال کود شیمیایی NPK تحت تنش قارچ سفیدک پودری در گیاه کاهو، حداکثر آسیب بافت گیاهی بصورت لکه‌های کلروزه و نکروزه مشاهده شد و این امر موجب افزایش تنش وارده به گیاهان تیمار شده گردید. پیش تیمار بذر با باکتری *پانتوآگلومرانس* موجب کاهش ۱۰۰ درصدی ظهور لکه‌های نکروزه و کمترین آسیب به بافت گیاه کاهو تحت تنش قارچ سفیدک پودری شد. تلقیح بذر کاهو با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش معنی‌دار رنگیزه محافظتی آنتوسیانین در برگ گردید و این امر موجب افزایش مقاومت غشاء برگ نسبت به کنیدی‌های قارچ سفیدک پودری در گیاه کاهو شد. به‌طور کلی، تلقیح بذر کاهو با باکتری‌های محرک رشد تحت شرایط تنش قارچ سفیدک پودری، کاهش اثرات تنش و افزایش مقاومت گیاهان میزبان حاصل شد. بدین‌ترتیب پیش تیمار بذر کاهو با باکتری‌های محرک رشد تحت تنش زیستی قارچ سفیدک پودری جهت افزایش عملکرد (وزن تازه بوته قابل برداشت)، کنترل زیستی و القای مقاومت به بیماری سفیدک پودری در راستای کاهش مصرف سموم شیمیایی و کود شیمیایی در مزارع کاهو توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر و قدردانی خود را از جناب آقای دکتر طاهر برزگر جهت حمایت و رهنمودهای ارزشمند ایشان و واحد تحقیق و توسعه شرکت زیست‌فناور سبز جناب آقای مهندس پژمان قاسمی‌نژاد جهت همکاری‌های لازم در انجام این پژوهش، اعلام نمایند.

References

1- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and application s of plant growth promoting rhizobacteri a: Current perspective. *Journal of King Saud University Science*, *26*, 1-20. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001

2- Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, *23*, 112-121.

3- Babu, S., Prasanna, R., Bidyarani, N., Nain, L., & Shivay, Y.S. (2015). Synergistic action of PGP agents and *Rhizobium* spp. for improved plant growth, nutrient mobilization and yields in different leguminous crops. *Biocatal Agric Biotechnol*, *4*, 456-464. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.09.004

4- Bahrami, N., Jalali, M., & Zare, A.K. (2020). The effect of various sources of iron on the nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Iranian Journal of Soil and Water Research*, *51*, 2953-2963. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijswr.2020.306193.668669

5- Basu, S., Roychoudhury, A., Saha, P.P., & Sengupta, D.N. (2010). Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. *Plant Growth Regulation*, *60*, 51-59. https://doi.org/10.1007/s10725-009-9418-4

6- Cappellari, L.D.R., Santoro, M.V., Nievas, F., Giordano, W., & Banchio, E. (2013). Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied Soil Ecology*, *70*, 16-22. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.04.001

7- Cézard, C., Farvacques, N., & Sonnet, P. (2015). Chemistry and biology of pyoverdines, Pseudomonas primary siderophores. *Current Medicinal Chemistry*, *22*, 165-186. https://doi.org/10.2174/0929867321666141011194624

8- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*, 178-182. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748

9- Chen, Y., Cao, S., Chai, Y., Clardy, J., Kolter, R., Gue, J., & Losick, R. (2012). A *Bacillus subtilis* sensor kinase involved in triggering biofilm formation on the roots of tomato plants. *Molecular Microbiology*, *85*, 418-430. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2012.08109.x

10- Chithrashree, C., & Srinivas, C. (2012). Role of antioxidant scavenging enzymes and extracellular polysaccharide in pathogenicity of rice bacterial blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *African Journal* of *Biotechnology*, *11*, 13186-13193. https://doi.org/10.5897/AJB12.1670

11- Demiray, S., Pintado, M.E., & Castro, P.M.L. (2009). Evaluation of phenolic profiles and antioxidant activities of Turkish medicinal plants: *Tilia argentea*, *Crataegi folium* leaves and *Polygonum bistorta* roots. *World Academy of Science Engineering and Technology*, *54*, 312-317. https://doi.org/10.5281/zenodo.1075066

12- Derikvand, F., Bazgir, E., Darvishnia, M., & Mirzaei Najafgholi, H. (2020). A study on the changes of some enzymes related to antioxidant defense system in common bean against *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*. *Nova* Biologica *Reperta*, *6*, 424-434. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.29252/nbr.6.4.424

13-Dinesh, R., Anandaraj, M., Kumar, A., Bini, Y.K., Subila, K.P., & Aravind, R. (2015). Isolation, characterization, and evaluation of multi-trait plant growth promoting rhizobacteria for their growth promoting and disease suppressing effects on ginger. *Microbiological Research*, *173*, 34-43. https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.01.014

14- Farahani, A.S., & Taghavi, M. (2016). Changes of antioxidant enzymes of mung bean [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek] in response to host and non -host bacterial pathogens. *Journal* of *Plant Protection Research*, *56*, 95-99. https://doi.org/10.1515/jppr-2016-0016

15- Fernandez, O., Theocharis, A., Bordiec, S., Feil, R., Jacquens, L., & Clement, C. (2012). *Burkholderia phytofirmans* PsJN acclimates grapevine to cold by modulating carbohydrate metabolism. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *25*, 496-504. https://doi.org/10.1094/MPMI-09-11-0245

16- Glick, B.R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Hindawi Publishing Corporation Scientifica. https://doi.org/10.6064/2012/963401

17- Itako, A.T., Tolentino Júnior, J.B., Júnior, S., Soman, J.M., & Maringoni, A.C. (2015). Chemical products induce resistance to *Xanthomonas perforans* in tomato. *Brazilian Journal of Microbiology*, *46*, 701-706. https://doi.org/10.1590/S1517-838246320140177

18- Jamali Zavareh, A.H., Sharifi Tehrani, A., Hejarood, GH.A., Zad, S.J., Mohammadi, M., & Talebi Jahromi, K.J. (2004). An investigation of the effectiveness of acibenzolar S methyl for the control of cucumber powdery mildew. *Iranian Journal of Agriculture Science*, *35*, 2. (In Persian with English abstract)

19- Jayaprakashvel, M., & Mathivanan, N. (2011). Management of plant diseases by microbial metabolites. In, Maheshwari DK (ed) Bacteria in agrobiology, plant nutrient management. *Springer Berlin Heidelberg*, 237-265.

20- Kara, M., & Mishra, E. (1976). Catalse, peroxidase and polyphenol oxidase activities rice leaf senescence. *Plant Physiology*, *57*, 315-319. https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315

21- Koc, E., İslek, C., & Üstun, A.S. (2010). Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science*, *23*, 1-6.

22- Kumar, M., Mishra, S., Dixit, V., Kumar, M., Agarwal, L., Singh Chauhan, P., & Shekhar Nautiyal, C. (2015). Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Signaling and Behavior*, *11*, e1071004. https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1071004
23- Lindenthal, M., Steiner, U., Dehne, H.W., & Oerke, E.C. (2005). Effect of downy mildew development on transpiration of cucumber leaves visualized by digital infrared thermography. *Phytopathology*, *95*, 233-240. https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0233
24- Liu, F., Zhuge, Y.Y., Yang, C.Y., Jin, S.X., Chen, J., Li, H., & Dai, G.H. (2010). Control effects of some plant extracts against cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) and their Stability Study. *Europ, Journal* of *Horticultural Science*, *75*, 147-152. https://doi.org/10.2307/24127045
25- Mahfouz, S.A., & Sharaf- Eldin, A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, *2*, 361-366. https://doi.org/10.1055/s-2007-987419
26- Mampholo, B.M., Maboko, M.M., Soundy, P., & Sivakumar, D. (2016). Phytochemicals and overall quality of leafy lettuce (*Lactuca sativa* L.) varieties grown in closed hydroponic system. *Journal of Food Quality*, *39*, 805–815. https://doi.org/10.1111/jfq.12234
27- Martins, S.J., Medeiros, F.H.V., Souza, R.M., & Resende, M.L.V. (2013). Biological control of bacterial wilt of common bean by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control*, *66*, 65-71. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.03.009
28- McGrath, M.T. (2017). Vegetable crops: powdery mildew of Cucurbits, Cooperative extension. https://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/fact sheets/Cucurbits_PM.htm
29- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., & Vanbeek, T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, *85*, 231-237. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007
30- Molaei, P., Barzegar, T., Baba Akbari Sari, M., Nekounam, F., & Ghahremani, Z. (2023). The effect of bio and chemical fertilizers on yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* cv. New Red Fire). *Journal of Horticultural Science*, *37*(3), 685-697. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76893.1175
31- Narendra Babu, A., Jogaiah, S., Ito, S., Kestur Nagaraj, A., & Tran, L.S.P. (2015). Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase. *Journal* of *Plant Sciences*, *231*, 62-73. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.11.006
32- Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd-Allah, E.F. (2017). Bacillus: a biological tool for crop improvement through bio- molecular changes in adverse environments. *Frontiers in Physiology*, *8*, 667. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00667
33- Saharan, B.S., & Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria. *Life Sciences and Medicine Research*, *21*, 1-30.
34- Saraf, M., Pandya, U., & Thakkar, A. (2014). Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. *Microbiological Research*, *169*, 18-29. https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.08.009
35- Shariatifar, N., Kamakar, A., Shams Ardakani, M.R., Misaghi, A., Jamshidi, A.H., & Khaniki, J. (2012). Quantitative and qualitative study of phenilic compounds and antioxidant activity of plant pulicaria gnaphalodes. *Journal of Gonabad University of Medical Sciences*, *18*, 35-42. (In Persian with English abstract)
36- Singla, J., & Krattinger, S.G. (2016). Biotic stress resistance genes in wheat. In: Wrigley, C.W., Faubion, J., Corke, H., Seetharaman, K. (Eds.). *Encyclopedia of Food Grains Elsevier Oxford*, 388-392. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00229-1
37- Singleton, V.L., & Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144
38- Sirous, A., & Jamali Zavareh, A.H. (2014). Effectiveness of celery leaf extract on the induction of resistance against cucumber powdery mildew. *Iranian Journal of Plant Pathology*, *50*(2), 151-161. (In Persian with English abstract)
39- Spaepen, S., & Vanderleyden, J. (2011). Auxin and plant-microbe interactions, Cold Spring Harb Perspect Biol. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001438
40- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology* (5th ed.), Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
41- Turan, M., Ekinci, M., Yildirim, E., Güneş, A., Karagöz, K., Kotan, R., & Dursun, A. (2014). Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *38*, 327-333. https://doi.org/10.3906/tar-1308-62
42- Vlot, A.C., Dempsey, D.A., & Klessig, D.F. (2009). Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology*, *47*, 177-206. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202
43- Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., & SkZ, A. (2015). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, *184*, 13-24. https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003

44- Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology*, *64*, 88-93. https://doi.org/10.1104/pp.64.1.88
45- Zhang, H., Murzello, C., Sun, Y., Kim, X., Mi, S.R., Jeter, R.M., Zak, J.C., Scot Dowd, E., & Pare, P.W. (2010). Choline and osmotic-stress tolerance induced in Arabidopsis by the soil microbe *Bacillus subtilis* (GB03). *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *23*, 1097-1104. https://doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1097
46- Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q., & Xia, X.J. (2010). Photoprotective roles of anthocyanins in Begonia semperflorens. *Plant Science*, *179*, 202-208. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.05.006
47- Zhu, J.H., Dong, K., Yang, Z.X., & Dong, Y. (2017). Advances in the mechanism of crop disease control by intercropping. *Chin Journal of Ecology*, *36*, 1117-1126. https://doi.org/10.13292/j.1000-4890.201704.016